



TITLE:

Up-Regulation of miR-582-5p Regulates Cellular Proliferation of Prostate Cancer Cells Under Androgen-Deprived Conditions(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Maeno, Atsushi

CITATION:

Maeno, Atsushi. Up-Regulation of miR-582-5p Regulates Cellular Proliferation of Prostate Cancer Cells Under Androgen-Deprived Conditions. 京都大学, 2015, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18856>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	前野 淳
論文題目	Up-Regulation of miR-582-5p Regulates Cellular Proliferation of Prostate Cancer Cells Under Androgen-Deprived Conditions (マイクロRNA miR-582-5pはアンドロゲン除去下での前立腺癌細胞増殖を制御する)		
(論文内容の要旨)			
【背景】			
マイクロ RNA は様々な癌の発生や進展に関連していることが報告されており、前立腺癌についても癌遺伝子や癌抑制遺伝子として働くマイクロ RNA がいくつか報告されている。また、前立腺癌の臨床的特徴としては、初期にはアンドロゲン除去療法に非常によく反応するが、一定期間ののち治療抵抗性となり、治療困難な去勢抵抗性癌へと進行することが知られている。			
【目的】			
前立腺癌の去勢抵抗性獲得に関わるマイクロ RNA の同定が本研究の目的である。			
【方法】			
泌尿器科学研究室で新規に樹立した前立腺癌去勢抵抗性獲得マウス xenograft モデル KUCaP2 と前立腺癌細胞株 LNCaP/AILNCaP#1 モデルを用いて、去勢抵抗性の獲得とともに発現が変化するマイクロ RNA をマイクロ RNA アレイ法および定量 PCR 法を用いて探索した。上記 2 つのモデルで共通して発現に変化を認めたマイクロ RNA を、前立腺癌細胞株 LNCaP や AILNCaP#1 にレトロウィルスを用いて過剰発現またはノックダウンさせ、その安定細胞株を樹立した。それらの安定細胞株とコントロール細胞のアンドロゲン除去下での細胞増殖および細胞周期の違いを直接細胞数計測法、色素還元法、FACS 法で解析した。さらに KUCaP2 モデルでの去勢抵抗性獲得前後の遺伝子発現の変化、LNCaP とそのマイクロ RNA を過剰発現した LNCaP の遺伝子発現の変化を、それぞれ cDNA アレイ法を用いて解析し、共通して変化する遺伝子を探索した。その遺伝子群のマイクロ RNA 結合領域公開データベースを用いて、ターゲットマイクロ RNA の標的遺伝子候補を絞り込み、その中にこれまで報告のあるヒト前立腺癌組織の cDNA アレイデータと合致する遺伝子を探索した。最後にその標的遺伝子の 3'非翻訳領域へ、ターゲットマイクロ RNA が結合するかどうかをルシフェラーゼアッセイ法で確認すると同時に、ターゲットマイクロ RNA を過剰発現またはノックダウンさせた時の標的遺伝子およびそのタンパク質の発現変化を PCR 法や Western blot 法で検証した。			
【結果】			
miR-582-5p は KUCaP2 xenograft モデルの去勢抵抗性グループおよび去勢抵抗性細胞株 AILNCaP#1 で発現が上昇していた。前立腺癌細胞株である LNCaP に miR-582-5p を導入すると、アンドロゲン除去下で細胞数は増加し、細胞周期においても S 期の割合が増加した。さらに、AILNCaP#1 に miR-582-5p のインヒビターを導入すると、アンドロゲン除去下で細胞数とともに S 期の割合も減少した。EFNB2 は KUCaP2 xenograft モデルの去勢抵抗性グループおよび miR-582-5p を過剰発現させた LNCaP-miR-582-5p で発現がともに低下していた。公開されているヒト前立腺癌組織 cDNA アレイデータにおいて EFNB2 のみが去勢抵抗性癌組織で発現低下していた。さらに LNCaP に miR-582-5p を過剰発現することにより EFNB2 のタンパク質発現は抑制された。また、AILNCaP#1 に miR-582-5p のインヒビターを導入すると EFNB2 のタンパク質発現は増加した。EFNB2 の 3'非翻訳領域の 2 か所に miR-582-5p が直接結合することが実験的に示された。			
【結論】			
今回の実験結果により miR-582-5p の発現亢進とその標的遺伝子 EFNB2 の発現抑制が前立腺癌の去勢抵抗性獲得に一部関与することが示唆された。			

<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>前立腺癌はホルモン依存性の腫瘍で、進行癌では去勢療法が標準治療である。しかし、ほぼ全ての前立腺癌は去勢抵抗性を獲得するため、その機序解明は重要な臨床課題である。本研究では2つの異なるモデルを用いて去勢抵抗性獲得に関わるマイクロ RNA の同定を試みた。まず、前立腺癌去勢抵抗性獲得マウス xenograft モデル KUCaP2 と前立腺癌細胞株 LNCaP/AILNCaP モデルでの発現解析で、去勢抵抗性の獲得と共に変化する miR-582-5p を同定した。次にホルモン感受性 LNCaP 細胞に miR-582-5p を過剰発現すると、アンドロゲン除去下でも細胞増殖し、ホルモン非感受性 AILNCaP 細胞 に miR-582-5p のインヒビターを導入すると細胞増殖は抑制された。さらに去勢抵抗性となった KUCaP2、及び miR-582-5p を過剰発現させた LNCaP で発現が共に低下する遺伝子として EFNB2 を同定した。LNCaP に miR-582-5p を過剰発現すると EFNB2 の蛋白質発現は抑制され、AILNCaP に miR-582-5p のインヒビターを導入するとその発現は増加した。以上より、miR-582-5p の発現亢進とその標的遺伝子 EFNB2 の発現抑制が前立腺癌の去勢抵抗性獲得に一部関与することが示唆された。</p> <p>本研究は前立腺癌の去勢抵抗性獲得に関わるマイクロ RNA の解明に貢献し前立腺癌研究に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 27 年 1 月 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			